

Литература:

1. Maternal diet of polyunsaturated fatty acid influence the physical and neurobehaviour of rat offspring / R. Yang [et al.] // Int. J. Dev. Neurosci. – 2018. – Vol. 71. – P. 156–162.
2. Maternal polyunsaturated fatty acid plasma levels during pregnancy and childhood adiposity. The Generation R Study / A.J. Vidakovic [et al.] // Am. J. Clin. Nutr. – 2016. – Vol. 103, № 4. – P. 1017–1025.
3. Cellular and molecular effects of n-3 polyunsaturated fatty acids on adipose tissue biology and metabolism / P. Flachs [et al.] // Clin. Sci. (Lond). – 2009. – Vol. 116, № 1. – P. 1–16.
4. N-3 long chain polyunsaturated fatty acids increase the expression of PPAR γ -target genes and resistance of isolated heart and cultured cardiomyocytes to ischemic injury / A. M. Shysh [et al.] // Pharmacol. Rep. – 2016. – Vol. 68, № 6. – P. 1133–1139.

УДК 616-093/-098

СОВРЕМЕННАЯ АВТОМАТИЗИРОВАННАЯ ТЕСТ-СИСТЕМА «ИД-СТРЕП» ДЛЯ ИДЕНТИФИКАЦИИ СТРЕПТОКОККОВ

*Пинчук А.Н., Ханенко Д.А., Какоиченкова А.К., Шилин В.Е.,
Окулич В.К., Коржова А. А., Гаева К. В., Ильющенко Е. Д.*

УО «Витебский государственный медицинский университет»

Введение. Различные виды стрептококков продолжают наносить значительный социально-экономический ущерб и оставаться в числе актуальных проблем здравоохранения многих стран, несмотря на выраженную тенденцию к снижению показателей заболеваемости, распространенности, временной нетрудоспособности и смертности [3]. Многообразие вызываемых нозологических форм диктует необходимость создания коммерческих тест-систем отечественного производства, которые являются наиболее перспективными для идентификации стрептококков, поскольку они избавляют практических бактериологов от трудоемких и дорогостоящих процедур и позволяют получать стандартные, сопоставимые, воспроизводимые данные, а также экономить реагенты и ускорять выдачу результата анализа [1, 2].

Цель работы. Разработать автоматизированную тест-систему «ИД-СТРЕП» для определения видовой принадлежности стрептококков.

Материал и методы. Согласно инструкции по применению № 075-0210 «Микробиологические методы исследования биологического материала», утвержденной Министерством Здравоохранения Республики Беларусь 13.03.2010 г., для исследования выделяли чистые культуры микроорганизмов или материал изолированных колоний с плотных питательных сред после первичного посева образца клинического материала. После этого использовали 5% кровяной Колумбия-агар для обнаружения различных видов стрептококков. Непосредственно для изготовления тест-системы «ИД-СТРЕП» были отобраны 22 теста (на основе данных литературных источников) для определения ферментативной активности микроорганизмов:

а) тесты на способность утилизировать углеводы (D-рибоза, D-маннит, D-лактоза, D-трегалоза, D-раффиноза, D-сахароза, L-арабиноза, α -циклодекстрин, пуллулан, D-мальтоза, D-мелибиоза, D-мелицитоза, метил- β D-глюкопиранозид, D-тагатоza),

б) тест на определение активности щелочной фосфатазы (4-нитрофенил- β D-галактопиранозид),

в) тесты для определения α -, β -галактозидазной, β -глюкозидазной, пироглютаминат-ариламидазной активностей (4-нитрофенил- α D-галактопиранозид, 2-

нафтил-βD-галактопиранозид, резорурфин-βD-галактопиранозид, резорурфин-βD-глюкопиранозид, пироглутаминат-β-нафтиламид),

d) тест на образование ацетоина (натрия пируват),

e) тест на определение способности гидролизовать натрия гиппурат.

Взвешенные реагенты растворяли в определенных буферных растворах с добавлением индикатора (или без него), после чего полученные разведенные субстраты вносили в лунки планшета с последующим их дегидрированием. Для постановки теста по идентификации стрептококков готовили суспензии исследуемых суточных культур на $(2 \pm 0,1)$ мл стерильной деионизированной воде (плотность должна соответствовать 3 оптическим единицам *McFarland*), после чего полученную взвесь микроорганизмов вносили в лунки планшета по 135 мкл. Далее планшет инкубировали при температуре (36 ± 2) °C в течение 18-24 часов в аэробных условиях и производили визуальный/инструментальный учёт. Для учета результатов идентификации стрептококков использовалась программа *bactoSTREP*, зарегистрированная (№ 954 от 06.06.2017) в Национальном центре интеллектуальной собственности.

Результаты и обсуждение. Визуальный учет результатов оценивался на основании цветовых переходов проб, которые произошли в результате биохимических реакций под действием ферментов микроорганизмов. Штаммы, обладающие ферментативной активностью, расщепляли соответствующие субстраты с изменением цвета содержимого лунок планшета, при ее отсутствии –

изменения цвета содержимого лунок не происходило. Инструментальный учёт производили с помощью комплексной автоматизированной системы, состоящей из фотометра универсального Ф300, адаптированного для учета результатов по изменению цвета пробы, и компьютера с программным обеспечением *bactoSTREP*.

С целью сокращения времени постановки опыта разработанная тест-система «ИД-СТРЕП» выпущена в виде комплекта, в состав которого входят следующие компоненты: 1 планшет с дегидрированными субстратами с пакетиком силикагеля, 4 флакона стерильной деионизированной воды объемом $(5 \pm 0,1)$ мл, 4 стерильных наконечника для автоматических дозаторов, инструкция по применению.

В настоящее время заключен договор по проведению комплекса предварительных технических работ, связанных с проведением экспертиз, инспектирования промышленного производства изделий медицинского назначения и медицинской техники, а также завершается клиническая апробация разработанных тест-систем «ИД-СТРЕП» на трех базах бактериологических лабораторий Республики Беларусь.

Выводы.

1. Разработана и подготовлена к внедрению в производство тест система «ИД-СТРЕП» для идентификации стрептококков, которая включает 22 теста по определению ферментативной активности микроорганизмов.

2. Тест-система «ИД-СТРЕП» по результатам внутренней апробации соответствует заявленным техническим требованиям как по параметрам оценки качества и воспроизводимости (94,2%), так и диагностической специфичности (сходимость результатов по сравнению с референс-методом 96,35%).

Литература:

1. Стрептококки и пневмококки / А.А. Баранов [и др.]. – Ростов н/Д: «Феникс», 2013. – 301 с.

2. Покровский, В. И. Стрептококки и стрептококкозы / В. И. Покровский, Н. И. Брико, Л. А. Ряпис. – М. : ГЭОТАР-Медиа, 2006. – 544 с.

3. Эпидемиологический надзор и профилактика стрептококковой (группы А) инфекции: Метод. рекомендации / Брико Н. И., Клейменов Д. А., Филатов Н. Н. [и др.] – М., 2005. – 52 с.